

**Research on the separation of main active components of
Morindae Officinalis Radix and Oroxyli Semen**

by

Zhu Kan

Master of Science



State Key Laboratory of Quality Research in Chinese Medicine

Institute of Chinese Medical Sciences

University of Macau



Research on the separation of main active components of
Morindae officinalis Radix and Oroxyli Semen

by

Zhu Kan

A thesis submitted in partial fulfillment
of the requirements for the degree of

Master of Science

State Key Laboratory of Quality
Research in Chinese Medicine
Institute of Chinese Medical Sciences
University of Macau



Approved by _____

Supervisor

Date _____



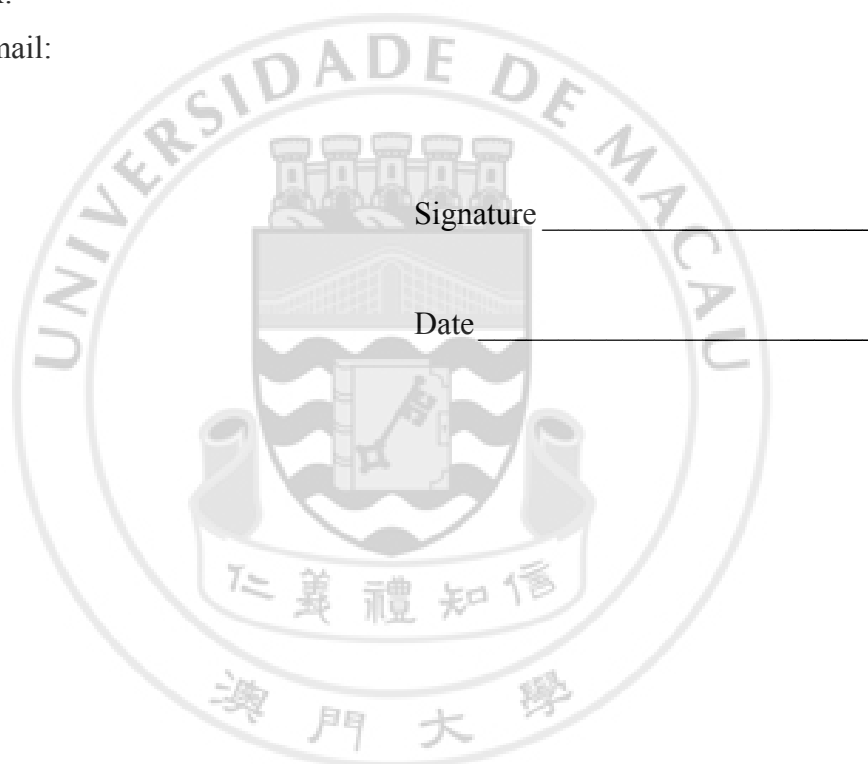
In presenting this thesis in partial fulfillment of the requirements for a Master's degree at the University of Macau, I agree that the Library and the Institute of Chinese Medical Sciences shall make its copies freely available for inspection. However, reproduction of this thesis for any purposes or by any means shall not be allowed without my written permission. Authorization is sought by contacting the author at

Address:

Telephone:

Fax:

E-mail:





碩士學位論文

嶺南道地藥材巴戟天和木蝴蝶的主要活性成分分離工藝研究

研究生姓名：朱侃
導師：張慶文
專業：中藥學
日期：2014年01月



澳門大學中華醫藥研究院
中藥質量研究國家重點實驗室



致 謝

美好的時光總是短暫的。在澳門大學中華醫藥研究院兩年半的學習生活即將結束之時，我要感謝所有在生活學習中幫助過我的可敬的師長，可愛的同學們，是你們無限的熱情支持我走到現在，是你們無私的幫助支持著我走到現在，我心中充滿了無盡的感激。

首先我要感謝我的導師，張慶文副教授。感謝張老師，兩年來在我學習生活上孜孜不倦的教誨以及無微不至的關懷與指導。張老師以他豐富的人生閱歷和寶貴的科研經驗引導我在自己的人生道路上昂首闊步，奮勇向前，在學習上開拓思路，積極進取。張老師，兩年來對我事無巨細親力親為，從指導實驗操作到整個課題研究的設計思路再到最後的論文撰寫，無不傾注了老師的大量心血，是老師的淵博學識和嚴謹的治學態度指引我走上科研道路，在充滿坎坷的道路上為我劈荊斬棘，使我乘風破浪一往無前。在此，請讓我奉上最真摯的敬意，由衷感謝張老師這兩年來的照顧與幫助。

非常感謝王一濤教授、李紹平教授、李銘源教授、鄭穎副教授、燕茹博士以及趙靜博士對我學習和實驗過程中的指導和幫助，在生活上對我無私的關心和鼓勵。

衷心感謝黃曉君博士在我實驗和論文寫作方面的細心指導和幫助，為我指點迷津，幫我開拓思路。感謝喬春峰博士幫助我鑑定藥材種屬和質量。

感謝畢超同學在我學習上的鼓勵和生活上的幫助。

感謝實驗室技術員黎暢明老師，阿喬，Dorian, Sandy 姐等對我實驗上的支持和幫助，為我們創造了良好的學習和實驗環境。

感謝植化組的各位師兄師姐和師妹，易衍師兄，周燕青師姐，楚俊師兄，陳燕柑師姐，李萍師姐，陳穎師姐，許發祥，袁岑師妹，感謝你們的陪伴和幫助。

感謝各位師兄師姐的幫助與指導，特別是宋月林師兄，黃衛華師兄，李靜師姐，呂廣萍師姐，胡德俊師兄，李德強師兄，感謝你們的幫助，讓我解決了實驗中的很多問題。

感謝兩年半來和我朝夕相處的同學們，楊瀟，宋菊，劉嘉明，劉戈，劉曉妹，

申東艷等，正是由於你們的幫助和支持，我才能克服一個又一個的困難，研究生的學習和生活因為有你們而更加精彩。

感謝澳門科學技術發展基金會對我的資助！

最後，感謝我的家人，感謝我的父母，感謝你們對我的支持和理解，感謝你們對我壞脾氣的包容和勸慰，感謝你們對我的養育，感謝你們為我的學習和生活默默地奉獻自己。



摘 要

巴戟天 (*Morinda officinalis Radix*) 是著名傳統中藥材，在中國常常作為藥食兩用。巴戟天內重要藥用成分環烯醚萜苷類化合物能被葡聚糖凝膠 LH-20，在水為流動相的條件下有效分離。同時還發現葡聚糖凝膠 LH-20 柱能分離純化巴戟天內兩種主要的環烯醚萜苷類成分，水晶蘭苷和去乙酰基車葉草苷酸。在本次研究中，採用兩種不同規格的玻璃層析柱進行對比，同時考察上樣量，來篩選和優化分離條件，同時還應用膜分離技術製備巴戟天內俱有重要活性的總寡糖。

本論文的第二部分為紫葳科 (*Bignoniaceae*) 木蝴蝶屬植物木蝴蝶 (*Oroxylum indicum* (L.) Vent.) 的成熟種子木蝴蝶內兩種俱有重要藥理活性的黃酮類成分木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 分離工藝。本次實驗採用大孔樹脂來分離純化這兩種化合物，通過選用 11 種俱有不同理化性質的大孔樹脂，評估他們對這兩種化合物的吸附與解吸附能力，選出最優樹脂型號為 D4020。大孔樹脂 D4020 俱有比其他樹脂更好的吸附分離效果。通過對 D4020 的吸附等溫線實驗，發現吸附過程更符合 Langmuir 吸附模型。採用 D4020 大孔樹脂分離木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B，通過改變上樣量考察了樹脂的分離能力，最後採用重結晶的方法，純化分離得到兩種化合物，純度達到 90% 以上。

關鍵詞：巴戟天；水晶蘭苷；去乙酰基車葉草苷酸；葡聚糖凝膠分離；總寡糖；卷式有機膜分離；木蝴蝶；木蝴蝶苷 A；木蝴蝶苷 B；大孔樹脂柱色譜法



Abstract

Morinda officinalis Radix is a famous Chinese Traditional Medicine used as both food and medicine in China. Iridoid glucosides compounds of *Morinda officinalis* Radix were chromatographed by a column filled with Sephadex LH-20 as the stationary phase and with water as the mobile phase. It was hypothesized that Sephadex LH-20 had separation effect to iridoids. Sephadex LH-20 column was successively used to isolate and purify two main iridoids. Meanwhile, membrane separation technology was used to separate oligosaccharide fractions. Firstly, the extract was filtered by gauze, and then intercepted by ultrafiltration membrane and nanofiltration membrane, at last we got samples by spray drying.

The second part of this thesis was preparative separation and purification of oroxin A and oroxin B from Semen Oroxyli by macroporous resins chromatography.

Oroxin A and oroxin B are known as two main compounds of major flavonoid glycosides in the seed of *Oroxylum indicum* (L.) Vent. (Bignoniaceae) and possess various pharmacological effects. In order to separate and purify these two compounds with macroporous adsorption resins, the adsorption properties of eleven kinds of resins were evaluated. Among them, D4020 resin had higher separation efficiency than other resins. Based on the experiments with D4020, it was showed that the experimental data fitted best to the Langmuir isotherm model. The separation parameters of oroxin A and oroxin B from extracts were optimized through dynamic adsorption/desorption experiments with the column packed by D4020. And we also use recrystallization method to increase the purities of these two compounds to more than 90%.

Keywords

Morinda officinalis Radix; monotropein; desacetyl asperulosidic acid; Sephadex LH-20 separation; oligosaccharide; membrane separation technology; Oroxyli Semen; oroxin A; oroxin B; Macroporous resins column chromatography



縮略詞列表

縮寫	英文全稱	中文全稱
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色譜法
UV	Ultra-Violet spectrum	紫外光譜
TLC	Thin Layer Chromatography	薄層色譜
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
MR	Macroporous Resin	大孔樹脂
BV	Bed Volume	色譜柱體積





目 录

致 谢.....	I
摘 要.....	III
Abstract.....	V
縮略詞列表	VII
目 录.....	IX
圖目錄.....	XI
表目錄.....	XIII
第一章 總序	1
第二章 嶺南道地藥材巴戟天主要環烯醚萜苷類成分和總寡糖分離工藝	3
摘要	3
Abstract	5
2.1 巴戟天研究概況	7
2.1.1 巴戟天化學成分研究	7
2.1.3 巴戟天中主要環烯醚萜苷類成份的化學及藥理學研究	11
2.1.4 巴戟天內重要活性成分寡糖類的化學與藥理研究	12
2.1.5 總結與展望	13
2.2 實驗部分	15
2.2.1 實驗材料	16
2.2.2 巴戟天內環烯醚萜苷類成分分離純化	16
2.2.3 巴戟天內總寡糖成分的分離	25
參考文獻	31
第三章 嶺南道地木蝴蝶主要黃酮苷木蝴蝶苷 A 和蝴蝶苷 B 分離工藝.....	33
摘要	33
Abstract	35
3.1 木蝴蝶研究概況	37
3.1.1 木蝴蝶化學成分研究	37
3.1.3 木蝴蝶藥理作用	38
3.1.4 總結與展望	40
3.2 木蝴蝶實驗部分	41
3.2.1 實驗材料	42
3.2.2 木蝴蝶藥材提取	42
3.2.3 木蝴蝶高效液相色譜條件建立	43
3.2.4 大孔樹脂靜態吸附解吸附實驗	43
3.2.5 大孔樹脂動態吸附解吸附實驗	45
3.2.6 結果與討論	46
3.2.7 實驗總結與展望	61
參考文獻	62

簡歷.....67



圖目錄

圖 1	部分已經分離獲得的化合物結構圖	9
圖 2	水晶蘭苷去乙酰基車葉草苷酸	12
圖 3	水晶蘭苷 (1) 和去乙酰基車葉草苷酸 (2) 的轉化	12
圖 4	巴戟天提取濃縮富集流程圖	17
圖 5	HPLC 下活性炭吸附 70% 醇水洗脫部液相圖	17
圖 6	水晶蘭苷和去乙酰基車葉草苷酸分離	22
圖 7	SUNTAR SPPM-18S-1 卷式有機膜實驗設備結構與設備規格	26
圖 8	卷式有機膜及其結構	26
圖 9	巴戟天水提物寡糖成分, 峰 1 為單糖, 峰 2~10 分別表示寡糖成分	27
圖 10	巴戟天總寡糖分離 A 組樣品 (1000D~8000D) 和 B 組樣品 (1000D~20000D)	29
圖 11	木蝴蝶水提液高效液相色譜法檢測	43
圖 12	不同型號大孔樹脂對木蝴蝶內兩種重要黃酮苷木蝴蝶苷 A (B 圖) 和木蝴蝶苷 B (A 圖) 的吸附量和解吸率	48
圖 13	室溫 25 °C 下木蝴蝶內兩種重要黃酮苷木蝴蝶苷 A (B 圖) 和木蝴蝶苷 B (A 圖) 的吸附等溫線	50
圖 14	室溫 25 °C 大孔樹脂 D4020 對木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 的吸附曲線	51
圖 15	室溫 25 °C 下大孔樹脂 D4020 對木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 的解吸附曲線	52
圖 16	大孔樹脂 D4020 柱分離木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 洗脫條件考察	55
圖 17	大孔樹脂 D4020 對木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 的柱分離考察	58



表目錄

表 1 水晶蘭苷与去乙酰基車葉草苷酸標準曲線回歸方程和線性範圍	18
表 2 水晶蘭苷与去乙酰基車葉草苷酸分離純化樣品結果	24
表 3 巴戟天總寡糖分離 A 組（1000D~8000D）和 B 組（1000D~20000D）各組份得率	29
表 4 實驗用大孔樹脂物化性質	44
表 5 木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 的標準曲線回歸方程和線性範圍。	46
表 6 室溫 25 °C 下木蝴蝶內兩種重要黃酮苷木蝴蝶苷 A（B 圖）和木蝴蝶苷 B（A 圖） 的吸附等溫線對 LANGMUIR 吸附模型和 FREUNDLICH 吸附模型擬合的具體參數....	51
表 7 蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 大孔樹脂 D4020 柱分離不同洗脫條件	53
表 8 木蝴蝶大孔樹脂 D4020 柱分離結果	59
表 9 重結晶法純化木蝴蝶苷 A 和木蝴蝶苷 B 結果.....	60

